

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号
特表2001-512504
(P2001-512504A)

(43) 公表日 平成13年8月21日 (2001.8.21)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコ-ト* (参考)
C 0 8 J 11/10		C 0 8 J 11/10	
C 0 8 L 77/12		C 0 8 L 77/12	
// C 0 8 G 18/42		C 0 8 G 18/42	Z
85/00		85/00	
C 1 2 P 1/00		C 1 2 P 1/00	A
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 33 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願平10-535288
(86) (22) 出願日 平成10年2月4日 (1998.2.4)
(85) 翻訳文提出日 平成11年8月10日 (1999.8.10)
(86) 国際出願番号 P C T / E P 9 8 / 0 0 5 8 5
(87) 国際公開番号 W O 9 8 / 3 6 0 8 6
(87) 国際公開日 平成10年8月20日 (1998.8.20)
(31) 優先権主張番号 1 9 7 0 6 0 2 3 . 4
(32) 優先日 平成9年2月17日 (1997.2.17)
(33) 優先権主張国 ドイツ (D E)

(71) 出願人 パイエル・アクチエンゲゼルシャフト
ドイツ連邦共和国デー51368レーフェルク
ーゼン
(72) 発明者 コツホ, ラインハルト
ドイツ連邦共和国デー51065ケルン・リ
ブニカーシュトラッセ12
(72) 発明者 ルンド, ヘンリク
デンマーク・デイクイー2200コペンハーゲ
ン エヌ・ノレプロガデ63, 3
(74) 代理人 弁理士 小田島 平吉 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 酵素を用いた生分解性ポリマー類の分解

(57) 【要約】

本発明は、生分解性ポリマー類から作られた成形体、織物生地、被膜、接着物またはフォームを酵素で完全に分解させることに関する。本発明は特にポリエステルアミド類および尿素基を伴っていてもよいポリエステルウレタン類の酵素分解に関する。

【特許請求の範囲】

1. 生分解性ポリマー類を酵素で分解させる方法であって、緩衝剤が入っていてもよくて1種以上のリパーゼもしくはクチナーゼまたは他の酵素との組み合わせであってもよい上記リパーゼおよびクチナーゼの1種以上が入っている水溶液で該ポリマー類を処理する生分解性ポリマー酵素分解方法。

2. 緩衝剤が入っていてもよくて他の酵素との組み合わせであってもよいカンジダ・アタルクチカのリパーゼ、ムコール・ミエヘイのリパーゼ、黒色アスペルギルスのリパーゼおよびフミコラ・インソレンスのクチナーゼを含む群から選択される1種以上のリパーゼもしくはクチナーゼまたは上記リパーゼおよびクチナーゼの1種以上が入っている水溶液で該ポリマー類を処理する請求の範囲第1項記載の生分解性ポリマー酵素分解方法。

3. 該溶液のpHを2から12の範囲にする請求の範囲第1項記載の方法。

4. アルコール／水混合物を溶媒として使用してもよい請求の範囲第1項記載の方法。

5. 該ポリマーをフィルム、シート、粒状材料または被膜として一体になった全体としてか或は粉碎した形態で存在させる請求の範囲第1項記載の方法。

6. 該生分解性ポリマー類として脂肪族もしくは部分芳香族ポリエステル類、尿素基を含んでいてもよい熱可塑性脂肪族もしくは部分芳香族ポリエステルウレタン類、脂肪族-芳香族ポリエステルカーボネート類および／または脂肪族もしくは部分芳香族ポリエステルアミド類を用

いる請求の範囲第1項記載の方法。

7. 下記：

A) 二官能線状アルコール類および加うるに任意に二官能環状脂肪族アルコール類および任意に二官能分枝アルコール類および任意により高い官能性を有するアルコール類と誘導体の形態で用いられてもよい二官能脂肪酸および／または任意に二官能芳香族酸および加うるにより高い官能性を有する酸からか、或は

B) 酸-およびアルコール-官能化成分またはそれらの誘導体から、芳香族酸の含有量が酸全部を基準にして50重量%以下になるように作られた脂肪族もしくは

は部分芳香族ポリエステル類、

、または

AとBの混合物もしくはコポリマー、

C) 二官能アルコール類および／または二官能環状脂肪族もしくは多環状脂肪族アルコール類および／または任意に少量の二官能分枝アルコール類および加うるに任意に少量のより高い官能性を有するアルコール類と二官能脂肪酸および／または任意に二官能芳香族酸および加うるに任意に少量のより高い官能性を有する酸から作られたエステル成分、または

D) 酸-およびアルコール-官能化成分またはそれらの誘導体から作られたエステル成分、または

CとDの混合物もしくはコポリマーと、

E) Cおよび／またはDと二官能脂肪族および／または環状脂肪族イソシアネート類および加うるに任意により高い官能性を有するイソシアネート類および加うるに任意に二官能線状および／または分枝および／ま

たは環状脂肪族アルコール類および／または加うるにより高い官能性を有するそのようなアルコール類および／または加うるに任意に二官能線状および／または分枝および／または環状脂肪族ジアルキルアミン類もしくはアミノアルコール類および／またはより高い官能性を有するアルキルアミン類またはアミノアルコール類および／または任意に他の修飾アミン類またはアルコール類を遊離酸または塩として反応させた生成物を、

エステルC) および／またはD) の含有量がC) とD) とE) の合計を基準にして少なくとも75重量%であるように含んで成る、

尿素基を含んでいてもよい脂肪酸もしくは部分芳香族ポリエステルウレタン類、

F) 二官能線状アルコール類および／または二官能環状脂肪アルコール類および／または任意に少量の二官能分枝アルコール類および加うるに任意に少量のより高い官能性を有するアルコール類と二官能線状および／または環状脂肪酸および加うるに任意に少量のより高い官能性を有する酸から作られたエステル成分、または

G) 酸-およびアルコール-官能化成分またはそれらの誘導体から作られたエステル成分、または

F) と G) の混合物もしくはコポリマーと、

H) 二官能芳香族フェノール類とカーボネート供与体から作られたカーボネート成分を、

エステル F) および／または G) の含有量が F) と G) と H) の合計を基準にして少なくとも 70 重量%であるように含んで成る、

脂肪族-芳香族ポリエステルカーボネート類、

I) 線状または芳香族アルコール類および／または二官能環状脂肪族アルコール類および／または任意に少量の二官能分枝アルコール類および加うるに任意に少量のより高い官能性を有するアルコール類と二官能線状および／または環状脂肪酸および加うるに任意に少量のより高い官能性を有する酸から作られたエステル成分、または

K) 酸-およびアルコール-官能化成分またはそれらの誘導体から作られたエステル成分、または

I) と K) の混合物もしくはコポリマーと、

L) 二官能線状および／または環状脂肪族アミン類および／または任意に少量の二官能分枝アミン類および加うるに任意に少量のより高い官能性を有するアミン類と二官能線状および／または環状脂肪酸および／または任意に少量の二官能分枝酸および加うるに任意に少量のより高い官能性を有する酸から作られたアミド成分、または

M) 環状脂肪鎖中に C 原子を好適には 4 から 20 個含む酸-およびアミン-官能化環状脂肪族成分、好適には ω -ラウロラクタム、最も好適には ϵ -カプロラクタムから作られたアミド成分、または

アミド成分としての L) と M) の混合物を、

エステル I) および／または K) の含有量が I) と K) と L) と M) の合計を基準にして少なくとも 30 重量%であるように含んで成る、

脂肪族もしくは部分芳香族ポリエステルアミド類、

をポリマー類として用いる請求の範囲第6項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

酵素を用いた生分解性ポリマー類の分解

本発明は、生分解性ポリマー類から作られた成形品、シート様製品、被膜、接着剤またはフォームを酵素で完全に分解させることに関する。本発明は、特に、ポリエステルアミド類および尿素基を含有するポリエステルウレタン類の酵素分解に関する。

完全な生分解性を示して堆肥になり得る材料が益々重要になってきている。近年、堆肥化で利用可能なプラスチック材料を得る目的で上記種類のポリマー類が多数開発されてきた。それと同時に、上記種類の材料を堆肥化で用いることを規制（LAGA印刷物M 10）するか或は材料が無害に堆肥になり得ることの検出（DIN 54900）を可能にするいろいろな規制および標準が発行された。これに関連して、表現「生分解」はそのように記述した材料が微生物の存在下で後者によって完全に代謝を受けてCO₂とバイオマス（biomass）を生じることを意味すると以前から理解されている。

ある種のプラスチックの分解は微生物がそのポリマーを利用して増殖するか否かで検出可能なばかりでなくまた酵素を用いて検出することも可能であることは公知である。後者の手順では、試験材料を適切な酵素と一緒にインキュベートした後、分解生成物の分析を行う（日本特許第56022324号、日本特許第06322263号、Polymer Degradation and Stability、1992、241-248頁）。基本的な研究に関連して、他の著者は原則として生分解の能力を検出する目的で酵素による分解度を利用してきた（Y. Tokiwa他：J. E. Glass（編集）ACS Symposium Series 433、1990、136-148頁）。この引用した論文には、ポリマーの完全な分解に関しては調査を行わなかったと明らかに述べられている。仮定ではあるがポリマーの完全な分解は何であるかの報告は見られる（フランス特許第93-6070号）。しかしながら、後者の資料で用いられたポリプロピレンフマレートの場合に達成されたのはエステル結合の開裂のみであった。公知の如く、生分解性を示さないポリプロピレンが後に残存した。今ま

で公知のケースは全部、酵素によるポリマーの分解は非常に僅かな度合のみであるか或は進行したとしても非常にゆっくりであった。調査ポリマー類の分解を特に効率良く迅速にもたすことを目的にした酵素選択は全く述べられていない。同様に、酵素によるポリマー類の完全な分解を商業的に利用する目的で改良することができると考えられる用途も全く述べられていない。

ポリエステルアミド類が生分解を受け得ることは一般に公知である (J. Appl. Polym. Sci.、1979、1701-1711頁、米国特許第4343931号、米国特許第4529792号、日本特許第79119593号、日本特許第79119594号、ヨーロッパ特許出願公開第641817号)。

また、尿素基を含むポリエステルウレタン類が完全な生分解性を示し得ることも公知である。分解の速度および度合はモノマーの組成に依存する (ドイツ特許出願公開第195 17 185号)。蛋白分解酵素がその記述した如きポリマー類に含まれる個々の結合を酵素攻撃することが記述されている (G. T. Howard, R. C. Blake, ASM General Meeting 1996, Abstracts 430頁)。フィルム、即ちシートの完全な分解も成形

品の完全な分解も記述されていない。

限定酵素類またはこのような限定酵素類の混合物を任意に他の酵素と一緒に用いて生分解性ポリマー類の成形品を完全に分解させることができることを見い出した。また、選択した酵素類は商業的に使用可能な時間内に上記種類のポリマーを完全に分解する能力を有することも見い出した。この分解手順の過程で、上記ポリマーの分子量は、それから製造し製品が分解を迅速に受けて単量体になりそして完全に分解するような度合にまで低下する。これは特に生分解性ポリマー類から作られたフィルム、シート様製品、被膜、接着剤、射出成形部品および粒状材料に当てはまる。

そのようなポリマーの完全な分解に要する時間は極めて短い。しかしながら、迅速で完全な分解が達成されるのは、ポリマーと酵素の特殊な組み合わせを選択した場合のみである。従って、ここで見い出した効果は、今まで知られていた生

分解性ポリマー類の酵素分解に関する研究とは有意に異なる。

本発明は、生分解性ポリマー類、特にポリエステルアミド類および尿素基を含むポリエステルウレタン類を酵素で分解させる方法に関し、ここでは、上記生分解性ポリマー類を、緩衝剤が入っていて(buffered)もよくて他の酵素との組み合わせであってもよいカンジダ・アンタルクチカ(*Candida antarctica*)のリパーゼ[特に成分B]、ムコール・ミエヘイ(*Mucor Miehei*)のリパーゼ(例えばLipzyme 20,000 L)、黒色アスベルギルスのリパーゼおよびフミコラ・インソレンス(*Humicola insolens*)のクチナーゼ(cutinase)を含む群から選択される1種以上

上のリパーゼもしくはクチナーゼまたは上記リパーゼおよびクチナーゼの1種以上が入っている水溶液で処理する。

生分解性で堆肥になり得る適切なポリマー類には、脂肪族もしくは部分芳香族ポリエステル類、尿素基を含んでもよい熱可塑性脂肪族もしくは部分芳香族ポリエステルウレタン類、脂肪族-芳香族ポリエステルカーボネート類および脂肪族もしくは部分芳香族ポリエステルアミド類が含まれる。ポリエステルアミド類および尿素基を含むポリエステルウレタン類が好適である。

下記のポリマー類が適切である：

A) 二官能線状アルコール類、好適には C_2-C_{12} アルキルジオール類、例えばエタンジオール、ブタンジオールまたはヘキサジオールなど、好適にはブタンジオールおよび／または任意に二官能環状脂肪族アルコール類、例えばシクロヘキサンジメタノールなどおよび／または任意に少量の二官能分枝アルコール類、好適には C_3-C_{12} アルキルジオール類、例えばネオペンチルグリコールなどおよび加うるに任意に少量のより高い官能性を有するアルコール類、好適には C_3-C_{12} アルキルポリオール類、例えば1, 2, 3-プロパントリオールまたはトリメチロールプロパンなどと二官能脂肪酸、例えば好適には C_2-C_{12} アルキルジカルボン酸、好適にはこはく酸またはアジピン酸などおよび／または任意に二官能芳香族酸、例えばテレフタル酸もしくはイソフタル酸またはナフタレンジカ

ルボン酸および加うるに任意に少量のより高い官能性を有する酸、例えばトリメリット酸などから作られた脂肪族もしくは部分芳香族ポリエステル類、または

B) 酸-およびアルコール-官能化 (functionalised)

成分、好適にはアルキル鎖中にC原子を2から12個含む成分、例えばヒドロキシ酪酸またはヒドロキシ吉草酸または乳酸など、またはそれらの誘導体、例えばε-カプロラクトンまたはジラクチドなどから作られた脂肪族もしくは部分芳香族ポリエステル類、または

AとBの混合物もしくはコポリマー、

[ここで、芳香族酸の含有量は酸全部を基準にして50重量%以下であり；上記酸をまた誘導体の形態、例えば酸クロライドまたはエステルなどの形態で用いることも可能である]

C) 二官能アルコール類、好適にはC₂-C₁₂ アルキルジオール類、例えばエタングリコール、ブタングリコールまたはヘキサングリコールなど、好適にはブタングリコールおよび／または二官能環状脂肪族もしくは多環状脂肪族アルコール類、例えばシクロヘキサングリメタノールなどおよび／または任意に少量の二官能分枝アルコール類、好適にはC₃-C₁₂ アルキルジオール類、例えばネオペンチルグリコールなどおよび加うるに任意に少量のより高い官能性を有するアルコール類、好適にはC₃-C₁₂ アルキルポリオール類、例えば1, 2, 3-プロパントリオールまたはトリメチロールプロパンなどと二官能脂肪酸、例えば好適にはC₂-C₁₂ アルキルジカルボン酸、好適にはこはく酸またはアジピン酸などおよび／または任意に二官能芳香族酸、例えばテレフタル酸もしくはイソフタル酸またはナフタレンジカルボン酸および加うるに任意に少量のより高い官能性を有する酸、例えばトリメリット酸などから作られたエステル成分、または

D) 酸-およびアルコール-官能化成分、好適にはアルキル鎖中にC原子を2から12個含む成分、例えばヒドロキシ酪酸またはヒドロキシ吉

草酸または乳酸など、またはそれらの誘導体、例えばε-カプロラクトンまたはジラクチドなどから作られたエステル成分、または

CとDの混合物もしくはコポリマーと、

E) Cおよび／またはDと二官能脂肪族および／または環状脂肪族イソシアネート類および加うるに任意により高い官能性を有するイソシアネート類、好適にはC原子を1から12個含むか或は環状脂肪族イソシアネート類の場合にはC原子を5から8個含むイソシアネート類、例えばテトラメチレンジイソシアネート、ヘキサメチレンジイソシアネートまたはイソホロンジイソシアネートなどおよび加うるに任意に二官能線状および／または分枝および／または環状脂肪族アルコール類および／またはより高い官能性を有するアルコール類、好適には C_3-C_{12} アルキルポリオール類、または環状脂肪族アルコール類の場合にはC原子を5-8個含むアルコール類、例えばエタンジオール、ヘキサンジオール、ブタンジオール、シクロヘキサンジメタノールなどおよび／または加うるに任意に二官能線状および／または分枝および／または環状脂肪族ジアルキルアミン類もしくはアミノアルコール類またはより高い官能性を有するジアルキルアミン類もしくはアミノアルコール類、好適にはアルキル鎖中にC原子を2から12個含むジアルキルアミン類もしくはアミノアルコール類、例えばエチレンジアミンまたはアミノエタノールなどおよび／または任意に他の修飾アミン類またはアルコール類、例えばエチレンジアミン-エタンスルホン酸（遊離酸または塩として）などの反応生成物を、

エステルC) および／またはD) の含有量がC) とD) とE) の合計を基準にして少なくとも75重量%であるように含んで成る、

尿素基を含んでいてもよい脂肪族もしくは部分芳香族ポリエステルウレタン類、
F) 二官能線状アルコール類、好適には C_2-C_{12} アルキルジオール類、例えばエタンジオール、ブタンジオールまたはヘキサンジオールなど、好適にはブタンジオールおよび／または二官能環状脂肪族もしくは多環状脂肪族アルコール類、例えばシクロヘキサンジメタノールなどおよび／または任意に少量の二官能分枝アルコール類、好適にはアルキル鎖中にC原子を3から12個含むアルコール類、例えばネオペンチルグリコールなどおよび加うるに任意に少量のより高い官能性を有するアルコール類、好適にはアルキル鎖中にC原子を3から12個含むア

ルコール類、例えば1, 2, 3-プロパントリオールまたはトリメチロールプロパンなどと二官能線状および／または環状脂肪酸および加うるに少量のより高い官能性を有する酸、好適にはアルキル鎖中にC原子を3から12個含む酸、好適にはアジピン酸などから作られたエステル成分、または

G) 酸-およびアルコール-官能化成分、好適にはアルキル鎖中にC原子を2から12個含む成分、例えばヒドロキシ酪酸またはヒドロキシ吉草酸または乳酸など、またはそれらの誘導体、例えばε-カプロラクトンまたはジラクチドなどから作られたエステル成分、または

F) とG) の混合物もしくはコポリマーと、

H) 二官能芳香族フェノール類、好適にはビスフェノールAとカーボネート供与体、例えばホスゲンなどから作られたカーボネート成分を、エステルF) および／またはG) の含有量がF) とG) とH) の合計を基準にして少なくとも70重量%でなければならないように含んで成る、脂肪族-芳香族ポリエステルカーボネート類、

I) 線状もしくは芳香族アルコール類、好適にはC₂-C₁₂ アルキルジオール類、例えばエタンジオール、ブタンジオールまたはヘキサンジオールなど、好適にはブタンジオールおよび／または二官能環状脂肪族もしくは多環状脂肪族アルコール類、例えばシクロヘキサンジメタノールなどおよび／または任意に少量の二官能分枝アルコール類、好適にはC₃-C₁₂ アルキルジオール類、例えばネオペンチルグリコールなどおよび加うるに任意に少量のより高い官能性を有するアルコール類、好適にはC₃-C₁₂ アルキルポリオール類、例えば1, 2, 3-プロパントリオールまたはトリメチロールプロパンなどと二官能線状および／または環状脂肪酸および加うるに任意に少量のより高い官能性を有する酸、好適にはアルキル鎖中にC原子を3から12個含む酸またはフェニルまたはナフチル環を含む酸、最も好適にはアジピン酸などから作られたエステル成分、または

K) 酸-およびアルコール-官能化成分、好適にはアルキル鎖中にC原子を2から12個含む成分、例えばヒドロキシ酪酸またはヒドロキシ吉草酸または乳酸など、またはそれらの誘導体、例えばε-カプロラクトンまたはジラクチドなどか

ら作られたエステル成分、または

I) と K) の混合物もしくはコポリマーと、

L) 二官能の線状および／または環状脂肪族アミン類および／または任意に少量の二官能分枝アミン類、好適にはアルキル鎖中にC原子を1から12個含むアミン類または二官能C₅またはC₆環状脂肪族アミン類および加うるに任意に少量のより高い官能性を有するアミン類〔このアミン類は最も好適にはイソホロンジアミンおよび最も好適にはヘキサメチレンジアミン〕と二官能の線状および／または環状脂肪酸および／また

は任意に少量の二官能分枝酸および加うるに任意に少量のより高い官能性を有する酸、好適にはアルキル鎖中にC原子を2から12個含む酸、最も好適にはアジピン酸などから作られたアミド成分、または

M) 酸-およびアミン-官能化環状脂肪族成分、好適には環状脂肪鎖中にC原子を4から20個含む成分、好適には ω -ラウロラクタム、最も好適には ϵ -カプロラクタムから作られたアミド成分、またはアミド成分としてのL) とM) の混合物を、

エステルI) および／またはK) の含有量がI) とK) とL) とM) の合計を基準にして少なくとも30重量%でなければならないように含んで成る、脂肪族もしくは部分芳香族ポリエステルアミド類。

このような生分解性で酵素で分解し得るポリエステルウレタン類、ポリエステル類、ポリエステルカーボネート類およびポリエステルアミド類は全部少なくとも10,000g／モルの分子量を有し、一般的にはポリマー中にランダムに分布している出発材料を含んで成る。任意にC) とD) に加えてE) を含んで成るポリウレタン類に典型的なポリマー合成では、モノマー成分が完全にランダムに分布することを常に期待するのは不可能である。そのような生分解性のポリエステルウレタン類、ポリエステル類、ポリエステルカーボネートおよびポリエステルアミド類の全部、好適にはポリエステルウレタン類は、塊状でか或は溶液または分散液、好適には水中の分散液として存在し得る。

本発明に従う完全に生分解性で酵素で分解し得るポリエステルウレタン類、ポ

リエステル類、ポリエステルカーボネート類およびポリエステルアミド類に充填材および補強剤そして補助加工助剤材料、例えば核形

成剤、離型剤または安定剤などを添加することも可能であるが、それらが完全に生物学的に酵素で分解され得ることが邪魔されることがないことも残存する物質がさらなる処理（例えば汚水浄化）の意味で無害であることも確保すべきである。

本発明に従って用いるに適切な充填材および補強剤は鉱物、例えばカオリン、チョーク、石膏、石灰石またはフレンチチョークなど、または天然物質、例えば澱粉もしくは修飾澱粉、セルロースもしくはセルロース誘導体もしくはセルロース製品、木粉、または天然繊維、例えば大麻、亜麻、西洋あぶらなまたはラミー繊維などであり得る。

本発明に従う完全に生分解性で酵素で分解し得るポリエステルウレタン類、ポリエステルカーボネート類およびポリエステルアミド類を互いに混合することもまた他のブレンド成分と混合することも可能であるが、それらが完全に生物学的に酵素で分解され得ることが邪魔されることがないことも残存する物質がさらなる処理（例えば汚水浄化）の意味で無害であることも確保すべきである。生分解性を示すか或は生分解性を示さない他のポリマー類をさらなるブレンド成分として用いることも可能である。

カンジダ・アンタルクチカのリパーゼ成分B、黒色アスペルギルスのリパーゼまたはムコール・ミエヘイのリパーゼ（例えばLipzyme 20,000 L、Novo Nordisk A/S、デンマーク）またはそれらの混合物を酵素分解で用いる。また、これらの酵素を互いに混合してもよいか或は他の酵素と一緒に混合してもよい。

酵素を組み合わせる時の比率は、それらがポリマーに関して示す活性またはその分解生成物に関して示す活性で決定される。上記酵

素を5：95から95：5の活性比（activity ratio）で用いてもよく、この比を好適には20：80から80：20、最も好適には40：60

または60:40にする。この活性を滴定で測定し、例えば酵素でポリマーの分解を起こさせている間に放出される酸基の滴定などで測定する。他の脂質分解もしくは蛋白分解酵素を用いることも可能である。

また、金属イオン、例えばナトリウムまたはカルシウムイオンなどを添加することも可能である。また、アニオン性もしくはノニオン性界面活性剤、例えば第二アルコールのエトキシレートなどを添加することも可能である。

本発明に従って使用可能なリパーゼ(B) [カンジダ・アンタルクチカ株、成分B] はWO 88/02775に記述されている。

リパーゼLipozyme 20,000 LはNovo Nordisk (デンマーク) が供給している商品である。

黒色アスペルギルス株のリパーゼは、例えばFluka社 (Buchs, Liechtenstein) などから商業的に入手可能である。

リパーゼ、クチナーゼ、エステラーゼ、ホスホリパーゼおよびリソホスホリパーゼを本発明の意味で脂質分解性酵素として表示する。このような脂質分解性酵素は好適には微生物を源とする。それらは特に細菌、菌・カビまたは酵母を源とする。1つの特に好適な態様における脂質分解性酵素は、アブシジア (Absidia)、特にアブシジア・ブラケスレエナ (Absidia blakesleeana) およびアブシジア・コリムビフェラ (Absidia corymbifera)、アスペルギルス属、特に黒色アスペルギルスおよび黄色アスペルギルス、

アクロモバクター (Achromobacter)、特にアクロモバクター・イオフアグス (Achromobacter iophagus)、アウレオバシジウム (Aureobasidium)、特にアウレオバシジウム・プルランス (Aureobasidium pullulans)、バチルス属、特にバチルス・プミルス (Bacillus pumilus) およびバチルス・ステアロテルモフィルス (Bacillus stearothermophilus)、プロコトリックス (Brochotrix)、特にプロコトリックス・テルモソファタ (Brochotrix thermosophata)、カンジダ属

、特にカンジダ・シリンドラセア (*Candida cylindracea*)
[カンジダ・ルゴサ (*Candida rugosa*)]、カンジダ・バラリボ
リチカ (*Candida paralyptolitica*) およびカンジダ・ア
ンタルクチカ (*Candida antarctica*)、クロモバクター (*C*
hromobacter)、特にクロモバクター・ビスコスム (*Chromob*
acter biscozum)、コプリヌス (*Coprinus*)、特にコプ
リヌス・シネリウス (*Coprinus cinerius*) ; フザリウム属、
特にフザリウム・オキシスポルム (*Fusarium oxysporum*) お
よびフザリウム・ソラニ (*Fusarium solani*)、ゲオトリクム (*G*
eotricum)、特にゲオトリクム・ペニシラツム (*Geotricum*
penicillatum)、ハンセヌラ (*Hansenula*)、特にハン
セヌラ・アノマラ (*Hansenula anomala*)、フミコラ (*Hum*
icola)、特にフミコラ・ブレビスボラ (*Humicola brevis*
pora)、フミコラ・ブレ

ビス・バー・テルモイデア (*Humicola brevis var. the*
rmoidea) およびフミコラ・インソレンス (*Humicola inso*
lens)、ハイフォズミア (*Hyphozyma*)、乳酸桿菌属、特にラクト
バシルス・クルバツス (*Lactobacillus curvatus*)、ペ
ニシリウム属、特にペニシリウム・シクロピウム (*Penicillium c*
yclopium)、ペニシリウム・クルストスム (*Penicillium*
crustosum) およびペニシリウム・エキスパンスム (*Penicill*
ium expansum)、シュードモナス属、特に緑膿菌、シュードモナス
・セバシア (*Pseudomonas cepacia*)、シュードモナス・フ
ルオレセンス (*Pseudomonas fluorescens*)、シュード
モナス・フラギ (*Pseudomonas fragi*)、シュードモナス・メ
フィチカ (*Pseudomonas mephitica*)、シュードモナス・
アルカリゲネス (*Pseudomonas alcaligenes*)、シュー
ドモナス・プランタリ (*Pseudomonas plantari*)、シュー

ドモナス・シュードアルカリゲネス (*Pseudomonas pseudoalcaligenes*)、シュードモナス・プチダ (*Pseudomonas putida*)、シュードモナス・メンドシナ (*Pseudomonas mendocina*) またはシュードモナス・スツツェリ (*Pseudomonas stutzeri*)、リゾムコル (*Rhizomucor*)、特にリゾムコル・ミエヘイ (*Rhizomucor miehei*)、クモノスカビ属、特にリゾプス・ジャボニウス (*Rhizopus japonius*)、リゾプス・ミクロスボルス (*Rhizopus m*

icrosporus)、リゾプス・デレマー (*Rhizopus delemar*)、リゾプス・ニベウス (*Rhizopus niveus*)、リゾプス・アルヒズス (*Rhizopus arhizus*) およびリゾプス・ノドス (*Rhizopus nodosus*)、ロドトルラ (*Rhodotorula*)、特にロドトルラ・グルチニス (*Rhodotorula glutinis*)、スポロボロミセス (*Sporobolomyces*)、特にスポロボロミセス・シバタヌス (*Sporobolomyces shibatanus*)、テルモミセス (*Thermomyces*)、特にテルモミセス・ラヌギノス (*Thermomyces lanuginosus*) [以前はフミコラ・ラヌギノサ (*Humicola lanuginosa*)]、チアロスボレラ (*Thiarosporcella*)、特にチアロスボレラ・ファセオリナ (*Thiarosporcella phaseolina*) および／またはトリコデルマ属、特にトリコデルマ・ハルザニウム (*Trichoderma harzanium*) およびトリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*) を源とする酵素である。また、脂質分解酵素は植物を源とするか或は動物を源とするものであってもよい。

1つの特に好適な態様における本発明に従う脂質分解酵素は、カンジダ・シリンドラセア株、カンジダ・アンタルクチカ株を源とする酵素、特にカンジダ・アンタルクチカのリパーゼB (WO 88/02775)、シュードモナス・セバシア株、ハイフォズミア株、黒色アスペルギルス株および／またはムコル・ミヘ

イ (mihei) 株を源とする酵素である。

別の好適な態様における脂質分解酵素は、ロドスポリジウム (*Rhodospiridium*) 株、特にロドスポリジウム・トルロイデス (*Rhodospiridium toruloides*)、またはシュードモナス属株、特に緑膿菌、シュードモナス・シュードアルカリゲネス、シュードモナス・フルオレセン、シュードモナス・プチダおよびシュードモナス・マルトフィリア (*Pseudomonas maltophilia*) を源とするエステラーゼである。

プロテアーゼは、好適には、バチルス属の細菌を源とする。有機体であるバチルス・アルカロフィルス (*Bacillus alcalophilus*) およびバチルス・リケニフォルミス (*Bacillus licheniformis*) に由来するプロテアーゼが最も好適である。

本発明に従う適切な酵素の生産で用いるに適切な有機体、例えばカンジダ・アントラルクチカなどは、微生物学で通常の方法で単離可能であり、例えば通常の栄養培地で培養してリパーゼ活性を試験することなどを通して単離可能である。また酵素の単離精製も通常方法で行う (例えばWO 88/2775参照)。

本発明に従う方法の実施に必要な水溶液に緩衝剤を添加してもよい。pHを一般に2から12、好適には5から9、最も好適には6から8の範囲にする。酵素による分解を実施する時の温度は一般に5から95℃の範囲であるが、20から70℃、最も好適には30から50℃の範囲が好適である。また、アルコール/水混合物を溶媒として用いることも可能である。

下記が本発明に従って使用可能な緩衝剤の例である：クエン酸塩、酢

酸塩、燐酸塩、蟻酸塩、炭酸塩、トリスーヒドロキシメチルアミノメレート、トリエタノールアミン、イミダゾール、しゅう酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、フタル酸塩、こはく酸塩およびエチレンジアミンに加えてそれらの数種。好適には酢酸塩、燐酸塩およびクエン酸塩を緩衝剤として用いる。

本方法は下記の如きいろいろな方法で実施可能である。

該ポリマーを酵素が入っている水溶液に加える。この生分解性ポリマーはフィ

ルム、シートまたは粒状材料として添加可能である。成形品は一体になっている全体としてか或は粉碎した形態で添加可能である。被覆または接着結合している材料、または生分解性ポリマーの被膜が付着している材料、例えば紙または厚紙などに加えて被覆紙または被覆厚紙などは、全体としてか或は粉碎形態で、酵素が入っている溶液に添加可能である。

また、酵素が入っている水溶液を分解を受けさせるべき被膜または分解を受けさせるべき成形品に噴霧するか或は噴霧で付着させることも可能である。

生物学的に酵素で分解し得るポリマー類（＝BAEDP類）およびそれらから生じさせたブレンド物の酵素分解に関してこの上に記述した方法は、本発明に従い、例えば下記の目的で使用可能である：

- BAEDP類に化学品、活性材料、ホルモン、アジュバント物質、酵素、微生物または植物の種を組み込み（例えばカプセルおよびマイクロカプセル）、そして酵素を添加して目標通りそれらを放出させる。
- 複合材料の製造でBAEDP類を接着剤または結合剤として用い、この場合の目的も再び後者を酵素で分解させることにある。
- ポリマー複合体、例えば遮蔽（例えば建物遮蔽）用の木複合体の製造でBAEDP類を用い、この場合の目的は、酵素を添加して後者を分解させるか或は分離速度を速めることにある。
- 厚紙または紙の被膜、接着結合またはサイジングでBAEDP類を用い、この場合の目的は、BAEDP類を酵素で分解して除去することにある。特にこの用途は、被覆および／またはサイズ処理紙、積層フィルムまたはブリスターパック（blister packs）の再生利用を包含する。これはまたBAEDP類と非分解性ポリマー類のブレンド物も包含し、この場合、上記BAEDPが酵素処理で脱離または分解し得る。これは、更に、厚紙または紙をBAEDPで被覆することを包含し、この場合の目的は、インク除去過程で酵素を用いて分離が困難な印刷用インク（例えばUVで架橋し得るインク）を除去することにある。
- 他のプラスチック、ラッカーまたは金属材料、特にアルミニウムを伴う厚紙

または紙の接着結合または被覆でBAEDPを用い、この場合の目的は、BAEDPを酵素で分解させることで他のプラスチック、ラッカーまたは金属を取り除く（場合によりそれらを再生利用する）ことにある。とりわけ、下記のプラスチックまたはラッカーが本発明に従う：ポリエステル類、ポリアミド類、ポリウレタン類、ポリオレフィン類、特にポリエチレンおよびポリプロピレン、ポリアクリレート類、エラストマー類、例えばゴムおよびその誘導体など、ポリビニルアルコール、ポリ酢酸ビニル、セルロースエステル、スチレンーブタジエンのポリマー類（アクリロニトリルを含有）、およびメラミン樹脂。特にこれは被覆紙、積層フィルムまたはブリスターパックの再生利用を包含する。

－ カーボンレス（carbonless）タイプ紙にマイクロカプセル

を塗布する目的でBAEDP類を結合剤として用い、この場合の目的は、上記結合剤を酵素で選択的に除去して紙を再生利用することにある。

－ BAEDP類で作られた成形品、シート様製品、接着結合製品、被膜またはフォームを使用する場合の目的は、それらを酵素で前以て処理しておくことで上記製品を分解させることにある。特にこれは液化を包含し、この場合の目的は、BAEDP類を使用後に污水处理で廃棄物として処分するか或は廃棄物の体積を小さくすることにある。

－ 成形品、シート様製品、フォームまたは被膜を製造し、それに適切な酵素を添加してそれを故意に多孔質にすることができる。

－ BAEDP類で繊維、織生地または織物を製造し、それらを酵素の使用で分解させるか或はその体積を小さくすることができる。

－ BAEDP類の水分散液を製造する目的で酵素を用いてそれらを分解させる。

－ BAEDP類で作られた被膜、張り合わせ、被覆材またはラッカーを酵素で選択的に除去する。

－ 酵素を用いてBAEDPのオリゴマー類を製造する。

－ シート様製品、成形品、フォームまたは被膜を製造してそれらに化学品、活性材料、アジュバント物質、酵素、微生物または植物の種を含有させて分布させ

た後、後者を酵素分解で放出させる。

－ B A E D P 類を用いて如何なる種類の包装用材料も製造可能であり、この場合の目的は、その包装製品を酵素の添加で処理しそしてそれを処理後に再び放出させることにある。これは、特に、洗淨剤 (w a s h i n g) を包装しそして洗淨過程でその包装物を酵素で分解させることに關する。更に、これは、特に、B A E D P 類で作られたフィルムで食べ

残し食料または他の材料を集めることにも關し、この場合の目的は、後者を殺菌し、それらを滅菌条件下で貯蔵した後、その内容物を酵素の添加で再び放出させることにある。

－ 人工肛門用衛生バッグ [オストミーバッグ (o s t o m y b a g s)] を酵素で分解させる。

－ 印刷用インクの製造で B A E D P 類を用い、この目的は、酵素で分解および／または除去可能なインクを製造して酵素によるインク除去過程を行うことにある。

－ 活性材料または毒性化合物、特に植物保護剤の包装で B A E D P 類を用い、この目的は、酵素で分解し得る包装品を製造するか或は酵素で分解し得るインレイを製造することでその取り巻いている包装材を汚染なしに再利用することを容易にすることにある。

－ 廃棄産物、特に排泄物を集める目的で B A E D P 類を用い、この場合の目的は、集めた後に包装材料を酵素で分解させてその包装されている材料を放出および／または処分することにある。

－ B A E D P 類を他の材料 (例えば金属または非分解性プラスチック) と組み合わせるか或はそれらの被膜として用い、この場合の目的は、使用後に B A E D P を酵素で分解させて他の材料を回収することにある。これは特に電子構成要素の再利用に適用される。

－ B A E D P 類と酵素の組み合わせを用い、この場合の目的は、B A E D P 類を酵素で処理してそれが堆肥化過程または好気処理過程で示す生分解速度を速めることにある。

実施例

本実施例に示す酵素を固体としてか或は酵素の液体溶液として添加し

た。添加した活性を下記のデータで示す：

1. Lipozyme 20,000 L (ムコル・ミヘイのリパーゼ)はNovo Nordiskが供給している商品である。この製造業者は酵素溶液の活性を20,000リパーゼ単位/gであると保証していた。1単位を、pH7.0下30℃でトリブチリン (tributyrin) から1分当たり1 μ モルのブチラートを放出する酵素の量として定義する。この活性を測定する方法は上記製造業者から表示「AF 95」の下で入手可能である。
2. カンジダ・アンタルクチカのリパーゼ成分Bは活性が16,000LU/mlの酵素溶液であった。Novo Nordiskが供給している実験品を用いた。この活性を再びトリブチリンからのブチラート放出として定義した。この活性を測定する方法はNovo Nordiskから表示「AF 95/5」の下で入手可能である。
3. 黒色アスペルギルスのリパーゼはFlukaが供給している商品であった。活性は1U/mgであると記載されていた。この活性を、pH8下40℃でトリオレイン (triolein) (これもまたFlukaが供給) から1分当たり1 μ モルのオレイン酸を放出する酵素の量として定義する。

実施例1

アジピン酸とブタンジオールのエステルを40重量%とカプロラク톤を60重量%用いてランダム縮合重合で作られたポリエステルアミド(20℃のメタクレゾール中1重量%の溶液で測定した時に2.5の相対溶液粘度を示した)から製造した厚みが50 μ mのブローンフィルムの小さい片を各々10mlの100mM磷酸カリウム緩衝液(pH7.

0)に入れた。

その後、所定量の酵素を固体形態で加えた。インキュベーションを数時間行なった。

表1：ポリエステルアミドの分解

	酵素	使用量	分解
実施例1	カンジダ・アンタルクチカ のリパーゼ成分B	3mg	++
対照	蒸留水		—
対照	緩衝液		—

— 分解なし、フィルムが無傷

+- ほとんど全く分解なし、フィルムがほとんど完全

＋ 分解が完全でない、フィルムが数多くの片に分解した

++ 完全に分解、フィルムが完全に分解した

上記実施例は、カンジダ・アンタルクチカのリパーゼ成分Bを用いると完全な分解が試験時間内に達成されたことを示している。対照実験は、水の添加および緩衝液の添加ではポリマーの分解がもたらされないか或はポリマーの分解が生じたとしても完全でないことを示している。

実施例2

実施例1と同じ組成のポリエステルアミドから製造した異なる厚みの射出成形部品およびブローンフィルムを200mlの50mM KP緩衝液（pH7.5）（アジ化Naが0.02%）に入れて攪拌（200rpm）しながら37℃でインキュベートした。カンジダ・アンタルクチカのリパーゼ成分Bを含んで成る固体粒子状酵素材料を50mg添加

した。このサンプルをインキュベートしている間、KOHを添加してpHを一定に保持した。目で見えた検査でサンプルが完全に分解したことを測定した。

表2：酵素による成形品の分解

バッチ番号	サンプルの厚み	完全分解に 要した日数	ポリマーの 初期重量(g)
1	ブローンフィルム 50 μ m	0.21	0.35
2	0.9 mm	3.9	1.4
3	1.7 mm	6.6	1.7
4	4 mm	14	1.5
5	6 mm	22	1.8

実施例 3

実施例 1 と同じ組成のポリエステルアミドのブローンフィルムでタイプ紙を被覆した。この被覆した紙をミキサーで小さい片に粉碎した後、50 mM の K P 緩衝剤を添加した緩衝溶液 (pH 7.0) (アジ化物が 0.02%) に移した。粘ちよう度を 3% に調整した。カンジダ・アンタルクチカのリパーゼ成分 B が 0.5% (体積/体積) 入っている酵素溶液を上記溶液に添加した。この混合物からサンプルを規則的間隔で取り出して、このサンプルに含まれるアジピン酸の含有量を測定した。試験したポリマーはアジピン酸をモノマー成分として含有していた。

予備試験において、被膜に匹敵するブローンフィルムは液体に含まれるアジピン酸の含有量が 6 ミリモル/l を越えた時点で完全に分解したことを確認した。従って、アジピン酸の放出を通して紙の被膜の完全な分解を追跡することができた。

この被膜は 2 時間以内に完全に分解した。酵素を含めなかった比較バッチでは被膜の分解が全く観察されなかった。

実施例 4

50 ml の磷酸カリウム緩衝液 (200 mM、pH 6.95、アジ化ナトリウムが 0.02%) に尿素基を含むポリエステルウレタン [バイエル社 (BAYER AG) が供給している商品である Degranil (商標) DLN] の粒子

を300mg加えた。その後、いろいろな酵素を所定量で加えた。その使用量を表3に示す。各場合ともバッチの最終濃度を示す。酵素液の最終濃度を1%（体積／体積）にした。固体状酵素の場合、それを0.1%（重量／体積）加えた。サンプルをバッチから20時間後、51時間後、164時間後および358時間後に取り出して、そのサンプルのpHおよびアジピン酸含有量を測定した。アジピン酸は調査したポリマーを合成した時に用いたモノマーの1つであった。インキュベーションの終点で分解しなかったポリマーの含有量を測定した。この目的で、折り畳んだフィルターにバッチ全体を通し、乾燥させた後、そのバッチの重量上昇を測定した。その重量と元の重量を比較した時の差で分解度を決定した。その結果を表3に要約する。

表3：尿素基を含むポリエステルウレタンDegranil（商標）

DLNの酵素分解

ーインキュベーション終了後に残存するポリマー

	酵素	残存ポリマー量(%)
比較	なし	101.6
実施例4-1	Lipozyme 20,000 L 1%(体積／体積)	8.6
実施例4-2	C. アンタルクチカリパーゼ 成分B 1%(体積／体積)	4
実施例4-3	黒色アスペルギルスリパーゼ 0.1%(重量／体積)	27.9

Degranil（商標）DLNはバイエルが供給している商品である。Lipozyme 20,000 LはNovo Nordiskが供給している商品である。

上述した3酵素は、試験ポリマーを評価できる度合で分解する能力を有する。特にC. アンタルクチカリパーゼ成分Bが上記ポリマーを迅速に分解した。アジピン酸の含有量は1番目のサンプルを取り出した時点で既に13mg/mlを越えていた。他のバッチでは放出されるアジピン酸の量がインキュベーションの最後になるまで最大値に到達しなかった。

実施例5

ポリエステルウレタン類の酵素分解

Bionolle 1010および3030の微細粒子を試験材料として用いた。Bionolle 1010および3030は昭和電工(Showa Denko)が供給している商品である。それらはポリエステルの長さを少量のジソシアネートで長くしたポリエステルウレタン

類である。

100mlの磷酸カリウム緩衝液(100mM、pH7、アジ化Naが0.02%)に上記ポリマーの微細な粒子を300mg添加した。次に、脂質分解酵素を所定量で加えた。

使用量を表に示す。各場合ともバッチの最終濃度を示す。酵素液の最終濃度を1%(体積/体積)にした。固体状酵素の場合、それを0.1%(重量/体積)加えた。インキュベーションの終点で分解しなかったポリマーの含有量を測定した。この目的で、折り畳んだフィルターにバッチ全体を通し、乾燥させた後、そのバッチの重量上昇を測定した。その重量と元の重量を比較した時の差で分解度を決定した。

Bionolle 1010を含有させたバッチの場合には5日後に終結させた。概して、Bionolle 3030を含有させたバッチの場合には2日後に終結させた。Bionolle 3030を含有させそしてLipozyme 酵素および黒色アスペルギルスのリパーゼを含有させたバッチの場合には3日後に終結させた。

その結果を表4に要約する。

表4：ジソシアネートによる伸長を受けさせたポリエステル(ポリエステルウレタン)の酵素分解

ーインキュベーション終了後に残存するポリマーー

	酵素	Bionolle 3030	Bionolle 1010
		初期量の%	
対照	なし	102	
実施例5-1	Lipozyme 20,000 L 1%	46	
実施例5-2	C. アンタルクチカリパーゼ 成分B 1%	28	
実施例5-3	黒色アスペルギルスのリパーゼ 0.1%	53	
対照	なし		99
実施例5-4	C. アンタルクチカリパーゼ 成分B 1%		33

Lipozyme 20,000 LはNovo Nordiskが供給しているリパーゼの商標である。

実施例6

ポリラクチドの酵素分解

ポリラクチド(=PLA)の微細粒子を試験材料として用いた。実施例4に記述した如く試験を実施した。

2日後に分解しなかったポリマーの含有量を測定した。

結果を表に要約する。

表5

酵素によるポリラクチドの分解

ーインキュベーション終了後に残存するポリマー

	酵素	初期量の%
対照	なし	100
実施例6-1	Lipozyme 20,000 L 1%	11
実施例6-2	黒色アスペルギルスのリパーゼ 0.1%	28

実施例 7

コポリエステルの酵素分解

使用した試験材料は、2797 gのテレフタル酸ジメチルと4217 gの1,4-ブタンジオールと3157 gのアジピン酸と3.1 gのチタンテトライソプロピラート／トリフェニルホスフェート（1：1）を用いてそれらを通常のエステル化で縮合重合させることで製造したポリエステルを微細粒子から成っていた。試験を実施例4に記述した如く実施した。

5日後に分解しなかったポリマーの含有量を測定した。

結果を表に要約する。

表6

酵素によるコポリエステルの分解

ーインキュベーション終了後に残存するポリマー

	酵素	初期量の%
対照	なし	100
実施例	C. アンタルクチカ リパーゼ成分B 1%	55

実施例 8

紙を覆っているポリエステルアミド被膜およびポリエチレン被膜を酵素で除去

生分解性ポリエステルアミド（実施例1参照）で被覆した紙またはポリエチレンフィルムを接着剤で結合させた紙のサンプルに酵素処理を受けさせた。このポリエチレンと紙の接着結合で生分解性のポリエステルを用いた。

被覆紙から各々の寸法が5 x 5 cmの片を切り取り、それを120 mlの0.1 M 磷酸水素二カリウム緩衝溶液（pH 6.5）が入っている250 mlの三角フラスコに入れて密封し、それを37℃で激しく攪拌（220 rpm）しながらインキュベートした。上記緩衝溶液にカンジダ・アンタルクチカのリパーゼ成分Bを0.5%（体積／体積）およびアジ化Naを0.02%（重量／体積）入れておいた。

数時間のインキュベーション時間後、生分解性ポリエステルアミドの被膜がその下に位置する紙から遊離して来た。これは上記緩衝溶液が若干濁ることで識別

可能であった。

36時間後、生分解性ポリエステルで紙に接着結合させておいたポリエチレンフィルムが紙から剥がれた。溶液中でポリエチレンと紙の個別の2層は浮いたままであった。正確に同じ様式で被覆しておいた紙のより小さい片の場合に起こった剥離はかなり速かった。

上記緩衝溶液に入っているポリエステルアミドの酵素分解産物をHPLC分析で検出した。

酵素を入れなかった対照バッチの緩衝溶液は36時間後に試験を停止した後でもまだ透明なままであり、ポリエステルアミドの分解生成物は

全く入っていなかった。

実施例9

生分解性ポリエステルアミドを用いた紙の接着結合に続く酵素による紙層分離

数枚の紙を生分解性ポリエステルアミドと一緒に積み重ねることができ、そしてその後、カンジダ・アンタルクチカのリパーゼ成分Bを用いてそれらを互いに再び分離させることができた。

この目的で、寸法が約2 x 2 cmの2枚の紙の間に同じサイズの生分解性ポリエステルアミド（実施例1参照）フィルムを1枚位置させて、約140℃のホットプレートで互いに接着結合させた。この接着結合過程に金属板を上記紙の上層の上に置くことでそれに荷重をかけた。約2分後、上記2枚の紙は互いにしっかりと接着結合した。

この紙の層分離を起こさせる目的で、その接着結合させた紙シートを、30 mlの0.1 M 燐酸水素二カリウム緩衝溶液（pH 6.5）が入っているベトリ皿に入れ、これにカンジダ・アンタルクチカのリパーゼ成分Bを2%（体積／体積）およびアジ化Naを0.02%（重量／体積）入れた。このバッチを若干攪拌しながら37℃でインキュベートした。

4時間後、紙のシートが互いに分離した。酵素を入れなかった対照サンプルでは、その2枚の紙は変化なしで互いに接着結合したままであった。

同様な様式で、また、数枚の紙の一方の側を生分解性ポリエステルアミドで被

覆した。この数枚の紙を同じ条件下でインキュベートした結果、上記ポリエステルアミドの層が3時間で剥がれた。これを濁度の上昇で検出した。

色の着いたフィルムを用いるならば、また、分解を色の消失で検出することも可能である。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 98/00585

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC6: C12P 7/62, C12P 1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC6: C12P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 9426812 A1 (CRAY VALLEY S.A.), 24 November 1994 (24.11.94), Claims 1 and 8; and Abstract	1-7
X	File WPI, Derwent accession no. 94-039714, AMANO PHARM KK: "Decomposition of aliphatic polyester(s) giving improved fibre texture without loss of strength - using immobilised lipase bound with water soluble polymer carrier, derived from Pseudomonas spp."; JP,A,5344897, 931227	1-7

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 June 1998 (11.06.98)

Date of mailing of the international search report

8 July 1998 (08.07.98)

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 98/00585

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	STN International, File ZCA, Chemical abstracts, volume 126, no. 16, 21 April 1997 (Columbus, Ohio, US), Chikyu Kankyo Sangyo Gijutsu K: "Biodegradable, flexible polymer compositions"; & JP,A2,09020857, 970121	1-7
X	Monographs, Band 133, 1996, R-J Müller, "Mechanistic Studies on the Biodegradation of Polyester", page 209 - page 211, page 214, last paragraph - page 215, first paragraph	1-7
P,X	Polymers for Advanced Technologies, Band 8, n° N4, April 1997, M. Mochizuki et al, "Classification of aliphatic polyesters", page 203 - page 209, page 207, left hand column, last paragraph	1-7

SA 36026

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

29/04/98

International application No.

PCT/EP 98/00585

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
NO 9426812 A1	24/11/94	AU 6848794 A	12/12/94
		FR 2705352 A,B	25/11/94

フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁷

識別記号

F I

ターマコード(参考)

C 1 2 P 7/62

C 1 2 P 7/62

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW